



MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
**INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS ESPACIAIS**

## **Estudo da atividade bactericida de nanotubos de carbono de paredes múltiplas (MWCNTs) modificados por tratamentos a plasma**

### **RELATÓRIO FINAL DE PROJETO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (PIBIC/CNPq/INPE)**

Mariana Bernardes da S. Palma (UNIVP, Bolsista PIBIC/CNPq)

E-mail: [mariana@las.inpe.br](mailto:mariana@las.inpe.br)

Dr. Evaldo José Corat (LAS/CTE/INPE, Orientador)

E-mail: [corat@las.inpe.br](mailto:corat@las.inpe.br)

Dr. Newton Soares da Silva (UNIVAP, Co-orientador)

E-mail: [nsoares@univap.br](mailto:nsoares@univap.br)

Colaboradores

Msc Anderson de Oliveria Lobo (ITA/INPE)

Dr. Érica Freire Antunes (ITA/INPE)

**Julho – 2009**

## **FOLHA DE APROVAÇÃO**



*“Educai as crianças para que não seja necessário punir os adultos.”*  
*(Pitágoras)*



**Meus pais,  
Mário J. R. Palma e  
Ernestina B. da S. Palma.**



## **Agradecimentos**

Ao conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pelo auxílio financeiro.

Ao Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais – INPE, pela oportunidade de estudo e utilização de suas instalações.

Ao Laboratório Associado de Sensores e Materiais – LAS, pela oportunidade de utilização de suas instalações.

Ao orientador Prof. Dr. Evaldo José Corat, pelo conhecimento passado, pela orientação e apoio na realização deste trabalho.

A Prof. Dr. Newton Soares da Silva, pelo conhecimento passado, pela orientação e apoio na realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Dinâmica de Compartimentos Celulares - UNIVAP, pela oportunidade de utilização de suas instalações.

Aos amigos de laboratório Dra Erica Freire Antunes, Mestre Anderson de Oliveira Lobo e Dra Fernanda Marciano pelo conhecimento passado, paciência e ajuda na realização deste trabalho.



## RESUMO

Dentro da classe de materiais nanoestruturados os MWCNTs têm grande potencial para aplicações biomédicas, devido às suas propriedades únicas, tais como, alta condutividade elétrica, alta estabilidade química e alta resistência mecânica. Porém, dependendo de sua utilização este material além de possuir resistência a desgaste e fadiga, é necessário que possua propriedades bactericidas. Testes realizados mostraram que os MWCNTs podem ter uma maior eficiência biocida sobre superfícies de dispositivos biomédicos. O objetivo deste trabalho foi a realização de teste preliminares da atividade bactericida dos MWCNTs, avaliando a possível aplicação do mesmo em filtros e revestimentos de dispositivos biomédicos. Os MWCNTs modificados por tratamento a plasma foram produzidos utilizando uma mistura de cânfora/ferroceno no Laboratório Associado de Sensores e Materiais (LAS/INPE). Os testes bactericidas foram realizados no Laboratório de Dinâmica de Compartimentos Intracelulares da UNIVAP. Para a realização dos testes utilizou-se cepa bacteriana padrão da linhagem *Escherichia coli* ATCC25922, denominada como *E.coli*. Como resultados parciais, os MWCNTs demonstraram uma ação bactericida em torno de 25%, podendo variar de acordo com o tempo de incubação e a concentração de MWCNTs. Esta ação ocorre devido à comprovada ação bactericida de aglomerados de carbono, podendo causar severos danos na membrana e subsequentemente inativação da bactéria.



## ABSTRACT

In the class of nanostructured materials the MWCNTs have a great potential for biomedical applications due to their unique properties such as high electrical conductivity, high chemical stability and high mechanical strength. However, depending on the use of this material it is necessary to have bactericidal properties. Tests showed that the MWCNTs can be more efficient biocide on surfaces of biomedical devices. The objective was to conduct preliminary testing of the bactericidal activity of MWCNTs, evaluating its possible application in filters and coatings for biomedical devices. The MWCNTs modified by the plasma treatment were produced using a mixture of camphor / ferrocene in the Associated Laboratory of Sensors and Materials (LAS / INPE). Bactericidal tests were performed at the Laboratory of Dynamics of the intracellular compartment of UNIVAP. For the tests used a standard bacterial strain of *Escherichia coli* ATCC25922 strain, known as *E.coli*. As partial results, the MWCNTs have a bactericidal action around 25% and can vary with time of incubation and the concentration of MWCNTs. This action occurs because of the proven bactericidal action of carbon clusters, which can cause severe damage in the membrane and subsequently inactivate the bacteria.



## SUMÁRIO

	PÁG
LISTA DE FIGURAS .....	15
LISTA DE GRÁFICOS .....	16
<b>CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>1.1 Os nanotubos de carbono .....</b>	<b>20</b>
<b>CAPÍTULO 2: MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>22</b>
<b>2.1 Produção dos nanotubos de carbono .....</b>	<b>22</b>
<b>2.2 Teste bactericida .....</b>	<b>22</b>
<b>2.2.1 Cepa bacteriana .....</b>	<b>23</b>
<b>2.2.2 Meio de cultura (caldo BHI) .....</b>	<b>24</b>
<b>2.2.3 Cultura da <i>E.coli</i> .....</b>	<b>24</b>
<b>2.3 Determ. de parâmetros para a realização dos testes bactericidas .....</b>	<b>25</b>
<b>CAPÍTULO 3: RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>27</b>
<b>CAPÍTULO 4: CONCLUSÕES .....</b>	<b>31</b>
<b>CAPÍTULO 5: TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>32</b>
<b>CAPÍTULO 6: REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>33</b>

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Exemplos típicos de estruturas de nanotubos de carbono ..... 20
- Figura 2:** Esquema experimental ..... 22
- Figura 3:** A) *E.coli* com aumento de 10.000x, B) *E.coli* com aumento de 15.000x .... 23
- Figura 4:** Curva típica de crescimento da bactéria *E.coli*. Essa curva representa as quatro fases do crescimento populacional bacteriano em uma situação próxima da real quando a população de bactérias cresce em um ambiente fechado (Moretti). ..... 24
- Figura 5:** A) a esquerda tubo de ensaio contendo cultura de *E.coli* e a direita tubo de ensaio contendo meio de cultura. B) tubos de ensaio contendo diferentes concentrações de NTCs. .... 25
- Figura 6:** A) Placa de 24 poços contendo as amostras para serem incubadas; B) Placa de 96 poços com as alíquotas para a realização de medida de absorbância. .... 26
- Figura 7:** Substratos planos: (a) pós-produzidos na parede do tubo de quartzo; (b) Ti; (c) Silício. Os números (1-3) indicam diferentes ampliações. .... 27

## LISTA DE GRÁFICOS

**Gráfico 1:** Gráfico com os valores obtidos com os testes bactericidas realizados com concentrações de 5, 7, 9, 12mg de NTCs após 24h de incubação. .... **28**

**Gráfico 2:** Gráfico com os valores obtidos com os testes bactericidas realizados com concentrações de 5, 7, 9, 12, 15, 20 e 30 mg de NTCs após 24h de incubação. .... **29**

**Gráfico 3:** Gráfico com os valores obtidos com os testes bactericidas realizados com concentrações de 5, 7, 9, 12, 15, 20 e 30 mg de NTCs após 24h de incubação. .... **30**



## CAPÍTULO 1

### INTRODUÇÃO

Os NTCs têm sido utilizados em várias aplicações como em eletrônica, testes com células, sensores, dispositivos ópticos e biomateriais. Com o desenvolvimento de novos materiais biomédicos, órgãos artificiais e componentes que auxiliam no suporte a vida de pacientes. Os biomateriais podem ser utilizados para auxiliar ou substituir órgãos humanos, devido a isso ficam em contato direto com tecidos, sangue, células e proteínas. Desta forma, sua biocompatibilidade é muito importante. Os biomateriais são divididos em duas classes: metal e não-metal. Os biomateriais metais são utilizados, por exemplo, em placas e parafusos para ortopedia (Hutmacher, 2000). Os biomateriais não-metais são utilizados em válvulas cardíacas e tubos artificiais (Taenaka, 1994). Recentemente, carbono pirolítico vem sendo utilizado para desenvolvimento de válvulas cardíacas artificiais, devido à sua fantástica propriedade mecânica e biocompatibilidade (Wang et al., 2000; Zhang et al., 2001). Uma válvula de coração artificial deve possuir boa propriedade mecânica como: resistência a desgaste, resistência a fadiga, porém é necessário que possua propriedades bactericidas.

A propriedade bactericida é um grande atrativo para implantes médicos, sendo que a questão mais importante relacionada ao implante de dispositivos artificiais é infecção por bactérias. A infecção por bactéria começa com a adesão da bactéria seguido da colonização das mesmas. Por isso, é importante inibir a adesão de bactérias na superfície do implante, produzindo implantes com funções antibactericidas. Elinson et al. descobriu que a contaminação microbial pode ser diminuída quando em contato com superfícies recobertas por filmes de carbono.

Os NTCs têm sido utilizados em várias aplicações, porém o seu uso em aplicações ambientais, entretanto é recente. Estudos prévios mostram os NTCs funcionalizados ou não, podem ser utilizados para adsorver contaminantes orgânicos e metais que estiverem presentes na água (Di et al., 2006; Peng et al., 2005). Outros estudos mostram a utilização dos NTCs em adsorção moléculas de contaminantes orgânicos de baixo peso e toxinas (Lu et al., 2005). Apesar de outros estudos demonstrarem uma razoável adsorção dos contaminantes, foi necessário o uso de grande quantidade de NTCs. Srivasta et al. construiu um filtro de membrana cilíndrica composta por NTCs alinhados, e este se mostrou eficiente na remoção de restos de

hidrocarbonetos em petróleo bem como bactérias e vírus. Wang et al. desenvolveu uma membrana com uma camada de NTCs, e esta membrana demonstrou uma alta retenção. Esta membrana pode ser utilizada em fluxos de água e separação seletiva em soluções de moléculas de baixo peso (Hinds et al., 2004).

O uso de filtração em areia e desinfecção com cloro são os métodos mais utilizados no tratamento de água. Entretanto, este método de tratamento não se mostra muito eficiente devido ao fato de ainda ocorrer casos de doenças relacionados à contaminação com água. De acordo com o relatório da OMS (Organização Mundial de Saúde) pelo menos 1/6 da população mundial (1.1 bilhões de pessoas) tem acesso à água potável (OMS, 2004). E como consequência são por volta de 2.2 milhões de pessoas morrendo por diarreia todo ano, principalmente crianças com menos de 5 anos.

Cerca de 28 mil pessoas ainda morrem no Brasil todos os anos por causa da contaminação da água ou de doenças relacionadas com a falta de higiene. O alerta é da OMS, que publicou um levantamento mostrando que investimentos no tratamento da água poderiam economizar grande quantidade de recursos públicos.

Os serviços de saúde no mundo poderiam evitar gastos de US\$ 7 bilhões ao ano se os governos optassem por dobrar investimentos com tratamento de água. Em termos de redução de gastos com saúde o mundo ganharia US\$ 84 bilhões por ano com um sistema de água confiável. Para isso, os países precisariam destinar cerca de US\$ 11,3 bilhões a mais para o setor de água, esgoto e sanitários.

No Brasil, a taxa de mortos pela contaminação da água é menor que a média mundial: 2,3%. Mas o País tem uma proporção de mortos bem acima das economias industrializadas. Segundo a OMS, mais de 15 mil pessoas morrem por ano no Brasil em consequência de diarreia. Já em países como Áustria, Itália e Dinamarca, por exemplo, apenas 0,1% das mortes são decorrentes de doenças causadas por água contaminada (OMS).

Apesar de os tratamentos de água potável utilizados atualmente possam controlar os patógenos microbianos, pesquisas mostram que existe um grande dilema entre desinfecção efetiva e produção de subprodutos nocivos da desinfecção (do inglês DBPs).

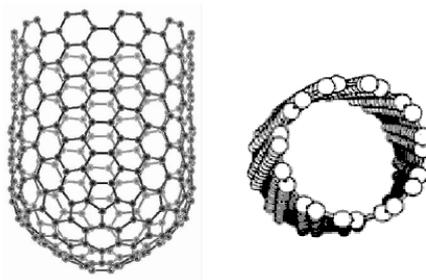
Desinfetantes químicos são utilizados em indústrias nos tratamentos de água tais como cloro e ozônio que podem reagir com os vários componentes da água e produzir DBPs, que podem causar danos a saúde. É necessário reavaliar os métodos

convencionais de desinfecção para que se possa diminuir e, se possível, evitar a formação de DBPs

O aumento das pesquisas em nanotecnologia tem despertado um interesse na utilização dos mesmos em aplicações ambientais, em particular nos processos de tratamento de água (Shannon et al., 2008). Os nanomateriais são bons adsorventes, catalisadores e sensores devido à superfície de contato e alta reatividade. Recentemente testes mostraram atividades antimicrobianas, tanto de nanomateriais naturais como sintéticos, como quitosana (Qi et al., 2004), nanopartículas de prata (Morones et al., 2005) e nanotubos de carbono (Kang et al., 2007). Estes nanomateriais têm atividade antimicrobiana semelhante aos desinfetantes químicos convencionais, porém não são fortes oxidantes e não produzem DBPs. Se incorporados em processos de tratamento, podem substituir ou aumentar a eficiência dos processos convencionais.

### ***1.1 Os Nanotubos de carbono***

Os NTCs são estruturas semelhantes ao fulereno, que consistem de cilindros de grafeno fechados nas extremidades por anéis pentagonais. A Figura 1.1 mostra exemplos típicos da estrutura de NTCs.



**Figura 1:** Exemplos típicos de estruturas de nanotubos de carbono.

Em geral, existem dois tipos de NTCs: Os nanotubos de carbono de parede simples (do inglês SWCNT) e os nanotubos de carbono de parede múltipla (do inglês MWCNT).

A toxicidade de NTCs foi avaliada em células de queratinócitos humanas. Os resultados mostraram um aumento do stress oxidativo e a inibição de proliferação celular em resposta ao tratamento de células de queratinócitos expostas às partículas de NTCs (Manna et al, 2005) . Em estudos mais avançados, utilizaram-se testes “*in vivo*”

em ratos, onde se induziu animais a inalarem os NTC, onde os resultados mostraram injúria pulmonar, gerando granulomas multifocais (Lam, 2003). A influência dos NTCs em células queratinócitas humanas (HEK293) foi investigada com a intenção de explorar até que ponto os NTCs são biocompatíveis. Os resultados mostraram que NTCs podem inibir a proliferação de HEK293 podendo induzir a apoptose e decréscimo na habilidade de adesividade celular. No retorno, as células HEK293 podem também mobilizar a atividade de resposta para a secreção de “pequenas” proteínas isoladas (Cui et al, 2005).

Os NTCs são os que mais atraem atenção dentro das classes dos nanomateriais por causa de suas características físico-químicas, mecânicas, elétricas bem como o alto potencial de aplicação. O aumento no interesse comercial e o aumento na produção dos NTCs irão tornar mais fáceis à interação dos NTCs com os humanos e o meio ambiente. Pois, o entendimento de sua toxicidade e impactos ambientais é necessário para futuras aplicações deste nanomaterial (Nel et al., 2006).

O efeito dos NTCs em bactérias e vírus não tem recebido muita atenção, provavelmente devido ao fato da dificuldade dispersar os mesmo em água. Alguns estudos mostram a capacidade dos nanotubos de carbono possuir atividade bactericida tanto em bactérias Gram-positivas como Gram-negativas, e alguns danos são atribuídos devido à interação física e de stress oxidativo que compromete a integridade da membrana celular (Kang et al., 2007,2008) (Narayan et al., 2005). Entretanto, o grau de agregação (Wick et al., 2007), estabilização (Hyung et al., 2007) e bioviabilidade dos nanotubos devem ser levadas em consideração (Brunet et al., 2008).

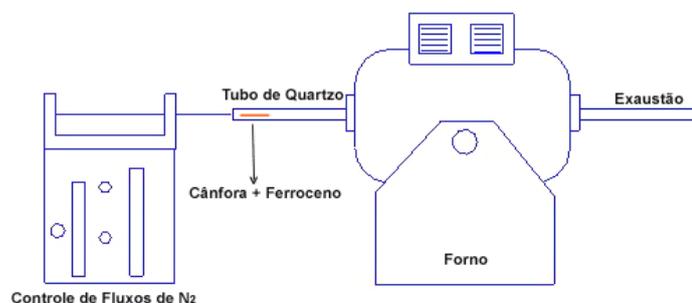
A atividade microbiana dos NTCs se dá quando o mesmo está em contato direto com o microorganismo (Kang et al., 2007). Apesar de ser baixa a inativação de bactérias com NTCs comparada com os métodos convencionais, o mesmo pode ser utilizado em produção de filmes de NTCs em membranas de filtragem de água. Por exemplo, Kang et al. realizou testes com uma membrana de filtro com NTCs onde ele observou 87% de morte em *E.coli* em 2 horas.

## CAPÍTULO 2

### MATERIAIS E MÉTODOS

#### 2.1 Produção dos nanotubos de carbono

Os NTCs foram depositados nas paredes de um tubo de quartzo em diferentes temperaturas (700-950°C) com mistura de cânfora/ferroceno, nas concentrações de ferroceno agrupadas de 1 a 100%, em pressão atmosférica. O sistema de CVD foi preparado para aquecer 5g da mistura durante 30 minutos em 200°C. O vapor produzido foi inserido na zona de reação, carregado por um fluxo de 200 sccm de N<sub>2</sub>. A Fig.8 mostra o esquema experimental instalado.



**Figura 2:** Esquema experimental

Mudanças na morfologia e qualidade cristalina dos MWCNTs foram avaliadas por Microscopia Eletrônica de Varredura de alta resolução (MEV) e por Espectroscopia Raman (Renishaw 2000, com laser de 514,5 nm). Nos aspectos gerais, temperaturas em torno de 850°C e concentrações de ferroceno abaixo de 17% são mais eficientes para a produção de MWCNTs. Substratos não-porosos como quartzo, titânio e silício se mostraram mais adequados ao projeto pela formação de NTCs mais alinhados.

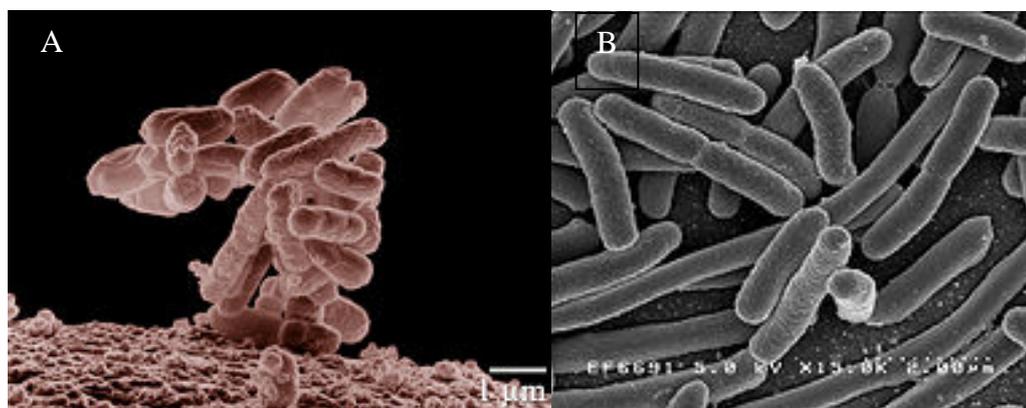
#### 2.2 Testes bactericidas

Os testes bactericidas com MWCNT foram realizados no Laboratório de Biologia Celular e Tecidual do Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento (IP&D) da

Universidade do Vale do Paraíba, com a supervisão do Prof. Dr. Newton Soares da Silva.

### 2.2.1. Cepas bacteriana

Foi utilizada cepa bacteriana padrão da linhagem *Escherichia coli* ATCC25922. Denominada como *E.coli* (ver Fig. 3), trata-se de uma parte natural do intestino dos animais, incluindo o homem, exercendo um efeito benéfico sobre o organismo, suprimindo a multiplicação de bactérias prejudiciais e sintetizando uma considerável quantidade de vitaminas (Silva et al., 2003). Dentre as cepas de *E.coli*, entretanto, há um grupo capaz de provocar doenças em indivíduos humanos, coletivamente chamadas de *E.coli* enteropatogênicas. Essas cepas ocupam hoje o segundo lugar entre os principais agente causadores de doenças de origem alimentar nos Estados Unidos, onde respondem por 7,4% dos surtos e 28,6% das mortes provocadas no período no período de 1993 a 1997 (Olsen et al., 2000; Moretti). Embora a maior parte de suas formas sejam inofensivas, algumas podem causar alguns danos como diarreia, infecções no trato urinário, doenças respiratórias entre outras doenças. Ainda outros tipos de *E.coli* podem ser utilizados como marcadores de água contaminada, pois a presença da mesma em água ou alimentos é indicativa de contaminação por fezes humanas (ou raramente de animais). A quantidade de *E.coli* em cada milímetro cúbico de água é uma das principais medidas usadas no controle da pureza da água potável, esta medida é conhecida como índice coliforme da água (Centers of Disease Control and Prevention).



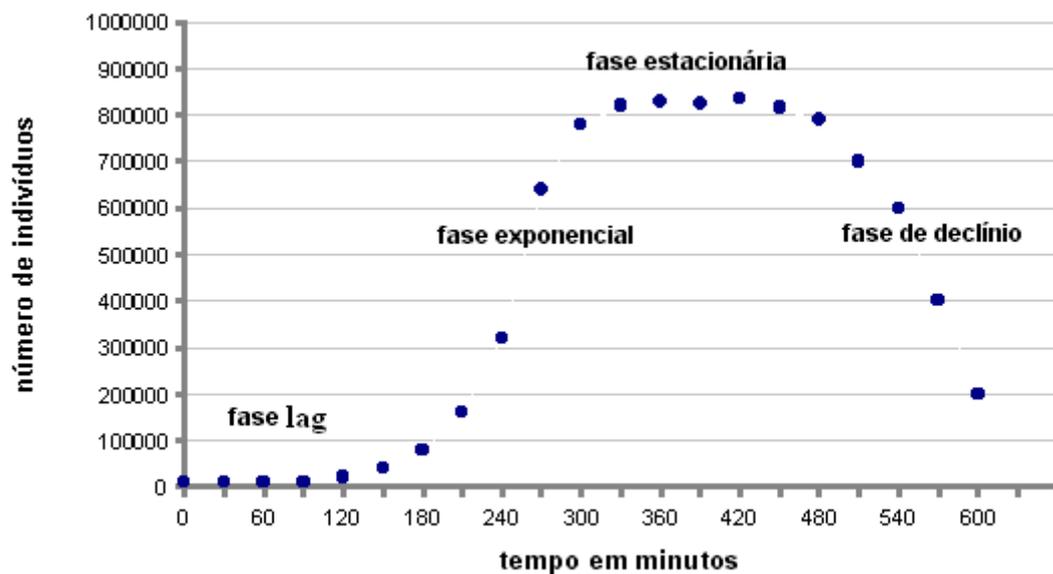
**Figura 3:** A) *E.coli* com aumento de 10.000x; B) *E.coli* com aumento de 15.000x.

### 2.2.2 Meio de cultura (caldo BHI)

Foram diluídos 3,7 gramas de meio BHI (Brain and Heart Infusion, Gibco) em 100 ml de água destilada, para o preparo de 100 ml de solução de meio de cultura para cepa bacteriana. Após esta etapa, as mesmas foram deixadas sob agitação para homogeneização da mistura. Em seguida, a solução foi autoclavada para esterilização e armazenada em uma garrafa de vidro, mantida em uma estufa (Fanem®) a 37°C.

### 2.2.3 Cultura da *E.coli*

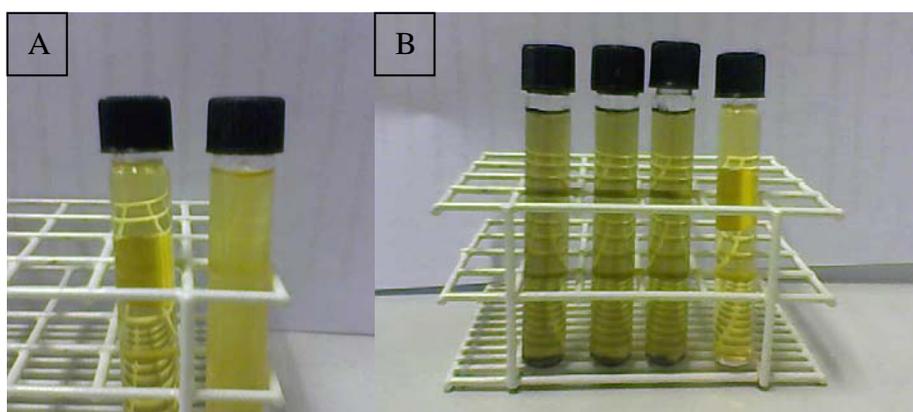
Através de uma cultura de estoque, foram preparadas, através de repique, culturas de estoque em tubos de vidro 18x18mm, contendo 100 µl de solução bacteriana e 8 ml de caldo BHI estéril. A Fig. 4 mostra uma curva típica de proliferação da *E.coli*. A cultura então foi encubada em estufa (Fanem®) a 37°C por um período de 3 a 4 horas correspondente a fase exponencial, também chamada de fase *log* do crescimento bacteriano.



**Figura 4:** Curva típica de crescimento da bactéria *E.coli*. Essa curva representa as quatro fases do crescimento populacional bacteriano em uma situação próxima da real quando a população de bactérias cresce em um ambiente fechado (Moretti).

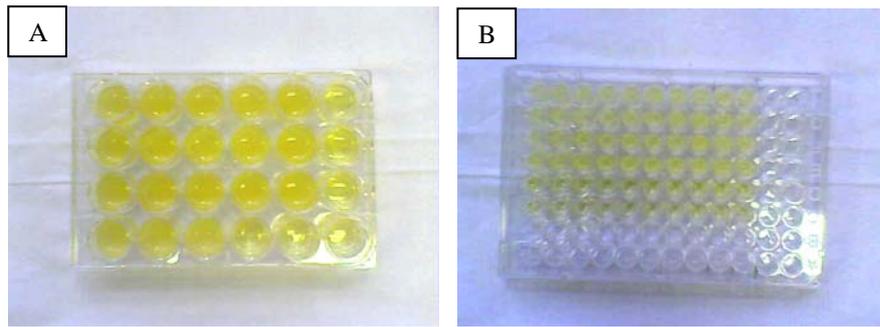
### 2.3. Determinação de parâmetros para a realização dos testes bactericidas

Em tubos de vidro 18x18mm, contendo 8 ml de caldo BHI e 100 µl de solução bacteriana foram adicionadas as seguintes concentrações de MWCNT: 5, 7, 9, 12, 15, 20 e 30 mg. Exemplos destes tubos são mostrados na Fig. 5. Em seguida, a cultura foi incubada de 3 a 4 horas correspondente a fase exponencial. Após este período de incubação foram retiradas alíquotas de 10 µl desta solução, e colocadas em placa de 24 poços adicionando-se 1 ml de caldo BHI, sendo todos os testes realizados em quintuplicata (Fig. 6<sup>a</sup>). As amostras foram incubadas por um período de 3 e 24 horas. Foram utilizados controles positivos (antibiótico - Gentamicina) e negativos (água destilada).



**Figura 5:** A) a esquerda tubo de ensaio contendo cultura de E.coli e a direita tubo de ensaio contendo meio de cultura. B) tubos de ensaio contendo diferentes concentrações de NTCs.

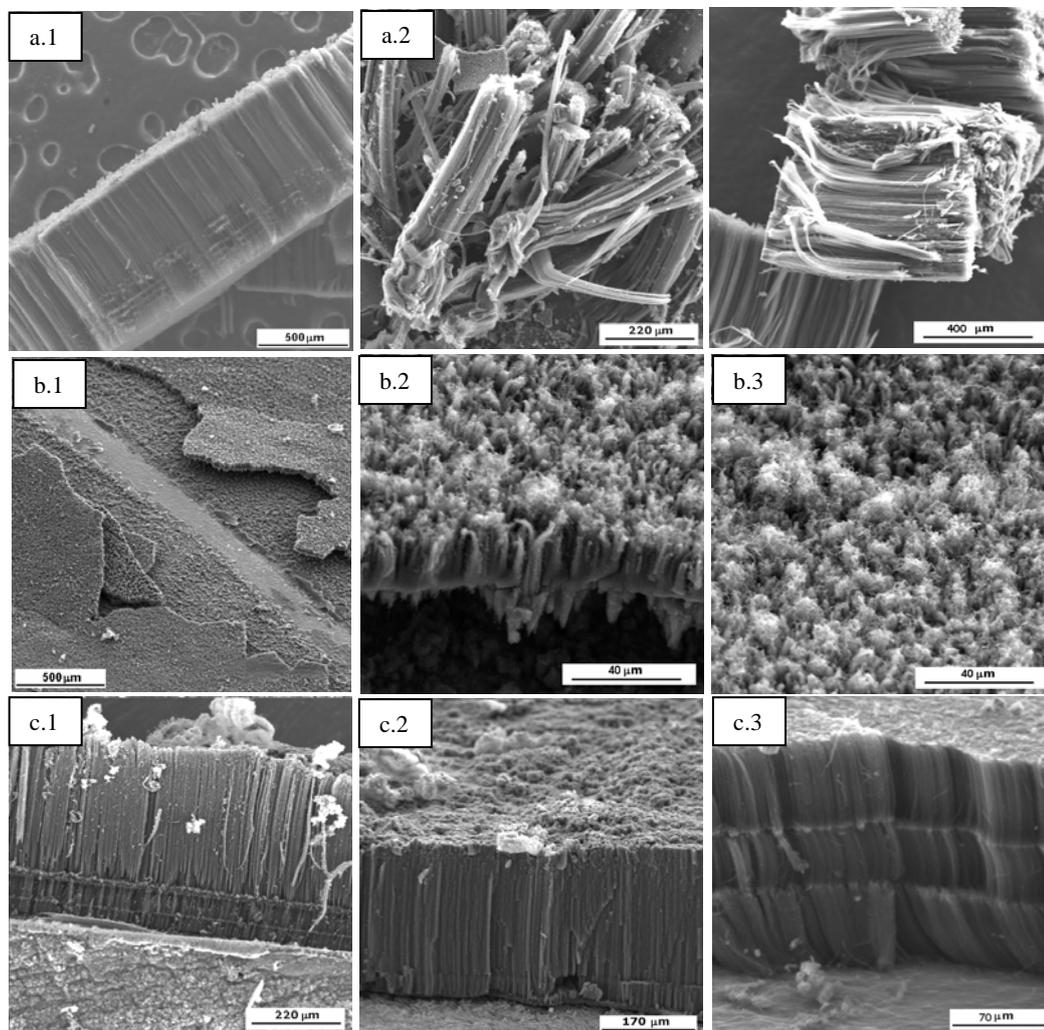
Após o período de incubação foram retiradas alíquotas de 100 µl de cada poço, e colocadas em placa de 96 poços (Fig. 6B) para realização da medida de absorvância da cultura em comprimento de onda de 570 nm, no Leitor Eliza SpectraCount®.



**Figura 6:** A) Placa de 24 poços contendo as amostras para serem incubadas; B) Placa de 96 poços com as alíquotas para a realização de medida de absorvância.

### CAPÍTULO 3

### RESULTADOS E DISCUSSÕES



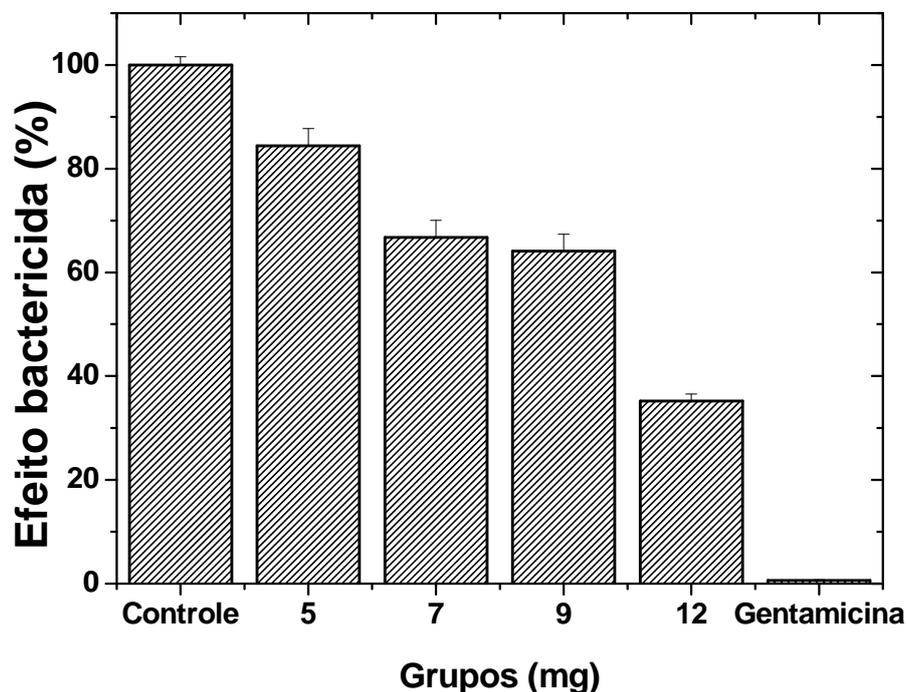
**Figura 7:** Substratos planos: (a) pós-produzidos na parede do tubo de quartzo; (b) Ti; (c) Silício. Os números (1-3) indicam diferentes ampliações.

Filmes espessos e com nanotubos alinhados (0,7mm) foram alcançados com substratos onde a difusão do ferro ou carbono não existe, tanto para  $\text{SiO}_2$  quanto o Si. Entretanto, para o titânio, uma camada de TiC foi formada, tornando menor o comprimento do filme de nanotubos (40 $\mu\text{m}$ ), pois parte do carbono foi consumido durante a deposição. Mesmo assim, foi mantido o alinhamento. Um fato curioso que ocorreu com substratos planos, melhor visualizado na Fig.7c3, é o crescimento por

camadas. Isto ocorreu por acaso, mas pode ser uma ferramenta poderosa para o escalonamento da produção.

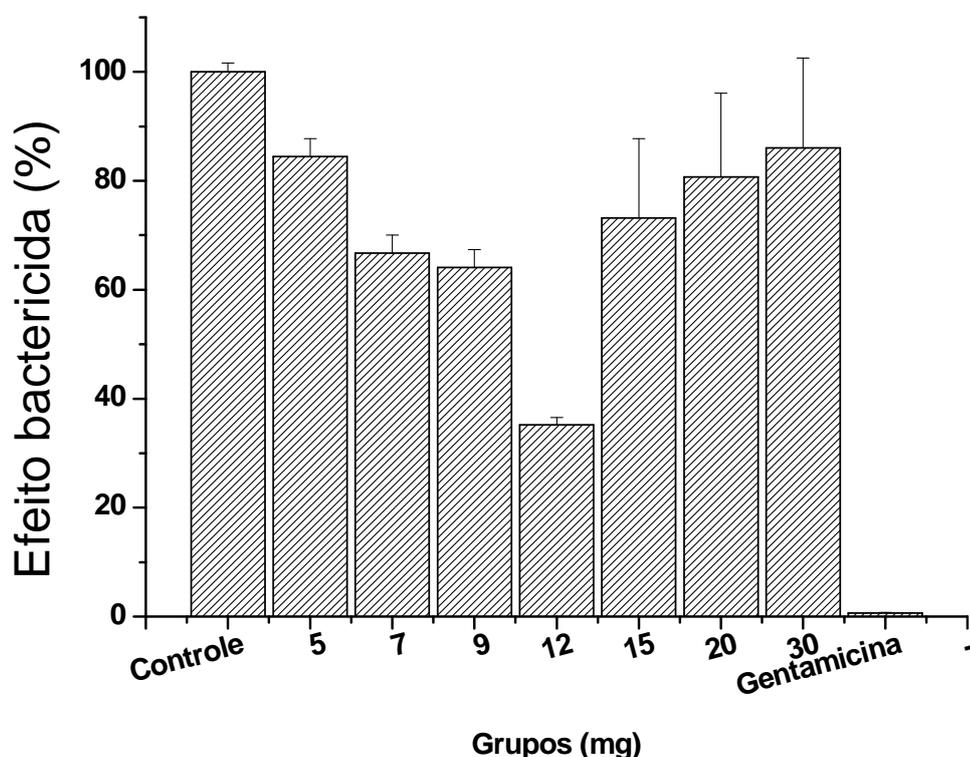
Os gráficos abaixo mostram os resultados obtidos com os teste bactericidas realizados com diferentes concentrações de NTCs. O controle positivo corresponde às bactérias tratadas com Gentamicina, um antibiótico de uso tópico. Como controle negativo às bactérias foram tratadas com água destilada. Também, foram realizadas leituras do meio de cultura para mostrar que o meio estava livre de bactérias, não sofrendo, entretanto, nenhum tipo de contaminação. A barra de erro corresponde ao desvio padrão da media das leituras das cinco amostras diferentes de cada grupo.

No gráfico 1, observamos que no geral ocorreu uma diminuição no número de bactérias em todos os grupos, em longo prazo. Entretanto observamos que a ação bactericida aumenta à medida em que a concentração dos NTCs aumenta. A ação bactericida varia de 20% a 60% com 12 mg.



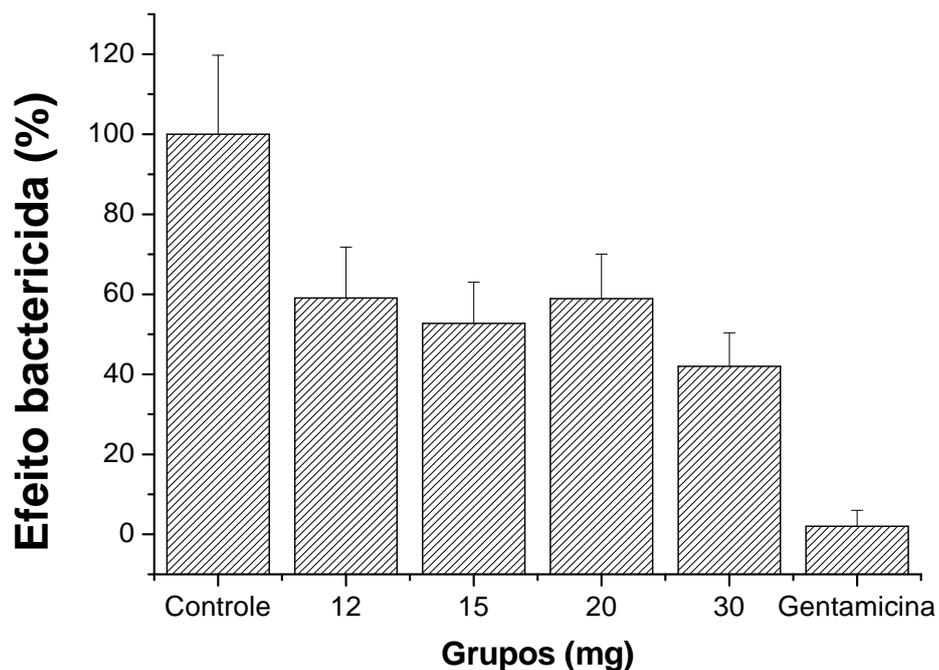
**Gráfico 1:** Gráfico com os valores obtidos com os testes bactericidas realizados com concentrações de 5, 7, 9, 12mg de NTCs após 24h de incubação.

No gráfico 2, observamos que ocorreu uma diminuição do número de bactérias até a concentração de 12 mg, com efeito bactericida variando de 20% até 60% , como demonstrado no gráfico anterior. Porém, à medida em que a concentração de NTCs aumenta os valores de ação bactericida decaem. Uma possível explicação, seria o aumento da densidade óptica do meio com o aumento do número de NTCs dispersos no meio. Outra possível explicação, seria a difícil dispersão dos mesmos em meio aquoso, na medida em que a concentração aumenta, pois os mesmo formam aglomerados o que diminui a área disponível para aderência das bactérias (Akasaka et al., 2009)



**Gráfico 2:** Gráfico com os valores obtidos com os testes bactericidas realizados com concentrações de 5, 7, 9, 12, 15, 20 e 30 mg de NTCs após 24h de incubação.

No gráfico 3, observamos que os valores de ação bactericida em curto prazo estão entre 35% e 40%. Porém com valores inferiores os valores de ação bactericida não se mostraram relevantes.



**Gráfico 3:** Gráficos com os valores obtidos com os testes bactericidas realizados com concentrações de 12, 15, 20, 30 mg de NTCs após 3h de incubação.

Alguns estudos relatam que esta ação bactericida dos NTCs, se dá devido à interação dos mesmos com a célula bacteriana por vários mecanismos. Os principais relatados na literatura são que as nanopartículas podem interagir diretamente com a célula bacteriana, por exemplo, interrompendo a transferência de elétrons transmembrana, oxidando componentes celulares ou produzindo produtos secundários (por exemplos, espécies reativas de oxigênio) que causam danos nas células (Li et al, 2008).

## **CAPITULO 4**

### **CONCLUSÕES**

Os valores de ação bactericida obtido com os NTCs, mostram que os mesmos podem ser uma alternativa aos tradicionais métodos de desinfecção químicos, que são propensos a gerar resíduos nocivos à saúde. Porém a falta de conhecimento dos possíveis danos que podem ser causados por esses materiais à saúde impede a aplicação dos mesmos de imediato. Devido a isso é necessária a realização de mais estudos para uma melhor compreensão de possíveis implicações que podem ser causadas à saúde humana e ao meio ambiente.

## **CAPÍTULO 5**

### **TRABALHOS FUTUROS**

- Realização de testes bactericidas com outras cepas bacterianas;
- Adição de NTCs em filtros de membrana;
- Testes bactericidas com os filtros de membrana.

## CAPÍTULO 6

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKASAKA, T. WATARI, F. CAPTURE OF BACTERIA BY FLEXIBLE CARBON NANOTUBES. *ACTA BIOMATERIALIA*, 2009,5, 607-612.

BRADY-ESTÉVEZ, A.S. KANG, S. AND ELIMELECH, M. A SINGLE-WALLED-CARBON-NANOTUBE FILTER FOR REMOVAL OF VIRAL AND BACTERIAL PATHOGENS, *SMALL* 4 (4) (2008), PP. 481–484.

BRUNET, L. LYON, D.Y. ZODROW, K. ROUCH, J.C. CAUSSAT, B. SERP, P. REMIGY, J.C. WIESNER, M.R. AND ALVAREZ, P.J.J. PROPERTIES OF MEMBRANES CONTAINING SEMI-DISPERSED CARBON NANOTUBES, *ENVIRON. ENG. SCI.* 25 (4) (2008), PP. 565–576.

CUI, D.; TIAN, F.; OZKAN, C.S.; WANG, M.; GAO, H.. EFFECT OF SINGLE WALL CARBON NANOTUBES ON HUMAN HEK293 CELLS. *TOXICOLOGY LETTERS*, 155:73–85, 2005..

DI, Z.C. DING, J. PENG, X.J. LI, Y.H. LUAN Z.K. AND LIANG, J. CHROMIUM ADSORPTION BY ALIGNED CARBON NANOTUBOS SUPPORTED CERIA NANOPARTICLES. *CHEMOSPHERE* 62 (2006), PP. 861–865.

ELINSON, V.M. SLEPTSOV, V.V. LAYMIN, A.N. POTRAYSAY, V.V. KOSTUYCHENKO L.N. AND MOUSSINA, A.D. NANOCRYSTALLINE DIAMOND SURFACE IS RESISTANT TO BACTERIAL COLONIZATION. *DIAMOND RELAT. MATER.* 8 (1999), P. 2103.

HUTMACHER, D.W. SCAFFOLDS IN TISSUE ENGINEERING BONE AND CARTILAGE. *BIOMATERIALS*. 2529–2543 (2000) 21.

KANG, S. PINAULT, M. PFEFFERLE, L.D. AND ELIMELECH, M. SINGLE-WALLED CARBON NANOTUBES EXHIBIT STRONG ANTIMICROBIAL ACTIVITY, *LANGMUIR* 23 (2007), PP. 8670–8673.

HINDS, B.J.; CHOPRA, N.; RANTELL, T.; ANDREWS, R. GAVALAS, V.; BACHAS, L.G. ALIGNED MULTIWALLED CARBON NANOTUBE MEMBRANES. *SCIENCE*, 303, 2004, 62.

HYUNG, H. FORTNER, J.D. HUGUES, J.B. AND KIM, J.H. NATURAL ORGANIC MATTER STABILIZES CARBON NANOTUBE IN THE AQUEOUS PHASE, *ENVIRON. SCI. TECHNOL.* 41 (2007), PP. 179–184.

KANG, S. HERZBERG, M. RODRIGUES, D.F. AND ELIMELECH, M. ANTIBACTERIAL EFFECTS OF CARBON NANOTUBES: SIZE DOES MATTER, *LANGMUIR* 24 (2008), PP. 6409–6413.

LAM, C. W. JAMES, J. T. MCCLUSKEY, R. AND HUNTER, R. L. PULMONARY TOXICITY OF SINGLE-WALL CARBON NANOTUBES IN MICE 7 AND 90 DAYS AFTER INTRATRACHEAL INSTILLATION. *TOXICOL. SCI.* 2004, 77, 126-134.

LI, D. LYON, D.Y. LI, Q. AND ALVAREZ, P.J.J. EFFECT OF NATURAL ORGANIC MATTER ON ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF FULLERENE WATER SUSPENSION, *ENVIRON. TOXICOL. CHEM.* 27 (2008), PP. 1888–1894.

LU, C.S. CHUNG, Y.L. AND CHANG, K.F. ADSORPTION OF TRIHALOMETHANES FROM WATER WITH CARBON NANOTUBES, *WATER RES.* 39 (2005), PP. 1183–1189.

MANNA, S. K. SARKAR, S. BARR, J. WISE, K. BARRERA, E. V. JEJELOWO, O. RICE-FICHT, A. C. AND RAMESH, G. T. SINGLE-WALLED CARBON NANOTUBE INDUCES OXIDATIVE STRESS AND ACTIVATES NUCLEAR TRANSCRIPTION FACTOR-KAPPA IN HUMAN KERATINOCYTES. *NANO LETT.* 2005, 5, 1676-1684.

MORETTI, P.E. MICROBIOLOGIA, SAÚDE & AMBIENTE, SECCÃO 1 BACTERIOLOGIA, PARTE 4 FISILOGIA. DISPONÍVEL EM: [WWW.FAM.BR/MICROORGANISMO/INDEX\\_0.HTM](http://WWW.FAM.BR/MICROORGANISMO/INDEX_0.HTM). ACESSO EM 15 JAN 2009.

MORONES, J.R. ELECHIGUERRA, J.L. CAMACHO, A. HOLT, K. KOURI, J.B. RAMIREZ, J.T. AND YACAMAN, M.J. THE BACTERICIDAL EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES, *NANOTECHNOLOGY* 16 (10) (2005), PP. 2346–2353.

NARAYAN, R.J. BERRY, C.J. AND BRIGMON, R.L. STRUCTURAL AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF CARBON NANOTUBE COMPOSITE FILMS, *MATER. SCI. ENG. B* 123 (2005), PP. 123–129.

NEL, A. XIA, T. MADLER, L. AND LI, N. TOXIC POTENTIAL OF MATERIALS AT THE NANOLEVEL. *SCIENCE*, 2006, 311, 622-627.

OLSEN, S.J. MACKINON, L.C. GOULDING, J.S. BEAN, N.H. SLUTSKER, L. SURVEILLANCE FOR FOODBORN DISEASE OUTBREAKS. MORBIDITY AND MORTALITY WEEKLY REPORT, V.49,N.SS01, P.1-51, MARCO 2000.

OMS. DISPONÍVEL EM [WWW.WHO.INT](http://WWW.WHO.INT). ACESSO 15 JUN 2009.

PENG, X.J. LUAN, Z.K. DING, J. DI, Z.C. LI, Y.H. AND TIAN, B.H.. CERIA NANOPARTICLES SUPPORTED ON CARBON NANOTUBES FOR THE REMOVAL OF ARSENAL FROM WATER. *MATER. LETT.* 59 (2005), PP. 399–403

QI, L. XU, Z. JIANG, X. HU, C. AND ZOU, X. PREPARATION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CHITOSAN NANOPARTICLES, *CARBOHYDR. RES.* 339 (16) (2004), PP. 2693–2700.

SHANNON, M. BOHN, P.W. ELIMELECH, M. GEORGIADIS, J.G. MARINAS, B.J. AND MAYES, A.M. SCIENCE AND TECHNOLOGY FOR WATER PURIFICATION IN THE COMING DECADES, *NATURE* 452 (2008), PP. 301–310

SILVA, N. SILVEIRA, N.F.A YOKOYA, F. OKAZAKI, M.M. OCORRÊNCIA DE ESCHERICHIA COLI 0157:H7 EM VEGETAIS COM RESISTÊNCIA AOS AGENTES DE DESINFECÇÃO DE VERDURAS. *CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS*, V.23, N.2, P.167-173, MAIO/AGOSTO 2003.

SRIVASTAVA, A. SRIVASTAVA, O.N. TALAPATRA, S. VAJTAI, R. AND AJAYAN, P.M. CARBON NANOTUBE FILTERS, *NAT. MATER.* 3 (2004), PP. 610–614.

TAENAKA, Y. DEVELOPMENT AND EVALUATION OF COMPONENTS FOR A TOTALLY IMPLANTABLE ARTIFICIAL HEART SYSTEM, *ASAIO* 314–317 (1994) 40.

ZHANG, F. WOLF, G.K. WANG, X. LIU, X. SURFACE PROPERTIES OF SILVER DOPED TITANIUM OXIDE FILMS, *SURF. COAT. TECHNOL.* 148 (2001) 65.

WANG, X.K. CHEN, C.L. HU, W.P. DING, A.P. XU, D. AND ZHOU, X. SORPTION OF  $^{243}\text{Am(III)}$  TO MULTIWALL CARBON NANOTUBES, *ENVIRON. SCI. TECHNOL.* 39 (2005), 2856–2860.

WICK, P. MANSER, P. LIMBACH, L.K. DETTLAFF-WEGLIKOWSKA, U. KRUMEICH, F. ROTH, S. STARK, W.J. AND BRUININK, A. THE DEGREE AND KIND OF AGGLOMERATION AFFECT CARBON NANOTUBE CYTOTOXICITY, *TOXICOL. LETT.* 168 (2007), 121–131.